



TITLE:

Loss of SMAD4 Promotes Lung Metastasis of Colorectal Cancer by Accumulation of CCR1+ Tumor-associated Neutrophils through CCL15-CCR1 Axis( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Yamamoto, Takamasa

---

CITATION:

Yamamoto, Takamasa. Loss of SMAD4 Promotes Lung Metastasis of Colorectal Cancer by Accumulation of CCR1+ Tumor-associated Neutrophils through CCL15-CCR1 Axis. 京都大学, 2017, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2017-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20229>

RIGHT:

許諾条件により本文は2017-08-04に公開; Final publication is available at 10.1158/1078-0432.CCR-16-0520

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	山 本 高 正
論文題目	Loss of SMAD4 Promotes Lung Metastasis of Colorectal Cancer by Accumulation of CCR1+Tumor-associated Neutrophils through CCL15-CCR1 Axis ( 大腸癌の SMAD4 欠損によりケモカイン CCL15 が分泌され、腫瘍周囲に CCR1 陽性腫瘍関連好中球(TAN)が集積し、肺転移が促進する)		
(論文内容の要旨)			
<p>マウスモデルでは <i>Apc</i> 遺伝子欠損で大腸腺腫を生じ、さらに <i>Smad4</i> 遺伝子欠損を掛け合わせると浸潤癌の表現型を獲得する。そのマウスモデルにおける浸潤機序は SMAD4 欠損により腫瘍細胞からケモカイン CCL9 が分泌され、その結果 CCL9 と親和性のあるケモカイン受容体 CCR1 を発現する骨髓球が腫瘍周囲に集積し腫瘍の浸潤、転移を促進する。これまでにヒト大腸癌細胞株において SMAD4 が欠損することで CCL9 のヒトオルソログである CCL15 の発現がプロモーターレベルで誘導されること、さらにヒト大腸癌原発巣および肝転移巣の臨床標本の解析から、SMAD4 欠損によって CCL15 発現が亢進した症例では CCR1 陽性骨髓球が腫瘍周囲に集積して癌浸潤、肝転移が促進されることを報告してきた。これらの研究を基礎として、肺転移マウスモデルでの検討に加えヒト大腸癌肺転移巣切除標本を解析することで、大腸癌の好発転移臓器である肺における CCL15-CCR1 ケモカイン・シグナルの役割について検証した。</p> <p>肺転移マウスモデルの検討では、ルシフェラーゼ安定発現細胞株 (Luc-HT29, Luc-HCT116) にレンチウイルスを用いて、1)HT29 に SMAD4 を強制発現した安定細胞株、2)HCT116 の内在性 <i>SMAD4</i> をノックダウンした安定細胞株を樹立し、免疫不全マウス (ヌードマウス) の尾静脈より注入し、肺転移成立頻度と転移巣の組織像について検討した。さらに Luc-T29 を免疫不全マウス (SCID マウス) の尾静脈に注入した後、コントロール群と CCR1 阻害薬投与群での肺転移巣の増殖を比較検討した。ヒト肺転移切除標本の検討では、81 症例、107 個の肺転移巣について SMAD4、CCL15、CCR1 の免疫組織染色を行い、CCL15 発現が予後に与える影響について検討した。また肺転移巣周囲に集積する CCR1 陽性細胞の特性評価のため、各種細胞特異的マーカーと CCR1 の蛍光二重免疫染色を行った。</p> <p>マウスモデルの検討では、1)SMAD4 を強制発現すると肺転移が有意に抑制され、2) <i>SMAD4</i> をノックダウンすると肺転移が促進される傾向にあった。SMAD4 陰性の肺転移巣では CCL15 が高発現し、転移巣周囲に CCR1 陽性骨髓球が集積していた。また CCR1 阻害薬投与により肺転移の増殖が抑制される傾向にあった。ヒト肺転移切除標本の検討では、CCL15 は主に転移巣中心部ではなく辺縁部に発現しており、81 転移巣 (76%) で陽性であった。CCL15 発現は多変量解析では肺転移巣における SMAD4 陰性のみが有意な関連因子であった (P=0.04)。CCL15 陽性転移巣では CCL15 陰性転移巣に比べ、その周囲に約 1.9 倍多くの CCR1 陽性骨髓球が集積していた。予後との関係では CCL15 陽性転移巣では根治切除後の無病生存期間が CCL15 陰性転移巣に比べ有意に悪かった (P=0.02)。肺転移巣周囲に集積する CCR1 陽性細胞の特性解析では、CCR1 陽性細胞の多くは CD11b(+), MP0(+), CD15(+), CD16(+), CD33(-), HLA-DR(-) の発現パターンを有する Tumor-Associated Neutrophil (TAN) であった。</p> <p>大腸癌肺転移では、SMAD4 の欠損により CCL15 の発現が誘導され CCR1 陽性好中球が転移巣周囲に集積し、肺転移が促進されることが示唆された。肺転移巣周囲に集積する CCR1 陽性好中球は大腸癌肺転移に対する新規の治療ターゲットとなり得る。</p>			

（論文審査の結果の要旨）  ヒト大腸癌肝転移巣・原発巣では、SMAD4 の欠損によって CCL15 の発現が亢進し CCR1 陽性細胞が腫瘍周囲に集積すると報告されている。申請者は肺転移マウスモデル及びヒト肺転移巣切除標本を解析し、大腸癌の好発転移臓器である肺における CCL15-CCR1 ケモカイン・シグナルの役割について検証した。  ルシフェラーゼ安定発現細胞株（Luc-HT29）に SMAD4 を強制発現した安定細胞株、Luc-HCT116 の内在性 <i>SMAD4</i> をノックダウンした安定細胞株を用いた肺転移モデルの検討では、SMAD4 を強制発現すると肺転移が有意に抑制され、SMAD4 をノックダウンすると肺転移が促進される傾向にあった。また CCR1 阻害薬投与により肺転移の増殖が抑制される傾向にあった。大腸癌肺転移患者 81 人の切除標本免疫染色の検討では、CCL15 陽性転移巣では CCL15 陰性転移巣に比べその周囲に約 1.9 倍多くの CCR1 陽性骨髓球が集積していた。予後との関係では CCL15 陽性転移巣では根治切除後の無病生存期間が CCL15 陰性転移巣に比べ有意に悪かった。肺転移巣周囲に集積する CCR1 陽性細胞の蛍光 2 重免疫染色による特性解析では、CCR1 陽性細胞の多くは Tumor-Associated Neutrophil (TAN) の発現型を示した。  以上の研究は大腸癌肺転移に関する分子生物学的メカニズム解明に貢献し、大腸癌肺転移に対する新たな治療戦略構築に寄与するところが多い。  したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。  なお、本学位授与申請者は、平成 2 8 年 1 2 月 1 5 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。
--

